

文章编号: 1001-6325(2023)04-0685-05

短篇综述

## 血管周围脂肪组织炎性反应 促进动脉粥样硬化作用机制的研究进展

杜丰禾<sup>1,2</sup>, 刘 暴<sup>1\*</sup>

1. 中国医学科学院 北京协和医学院 北京协和医院 血管外科, 北京 100730;
2. 北京协和医学院 临床医学专业试点班, 北京 100730

**摘要:** 动脉粥样硬化严重威胁人类生命与健康。高血压、高脂血症病理条件下,血管周围脂肪组织(PVAT)中免疫细胞亚型紊乱、棕色脂肪“白色化”、氧化应激反应等病理改变可促进PVAT炎性反应。PVAT炎性反应可通过引起促炎及抑炎性脂肪因子分泌紊乱、抑制PVAT中细胞自噬、诱导动脉外膜滋养血管形成等机制,促进内皮细胞功能损害、动脉内膜单核-巨噬细胞浸润、动脉粥样硬化斑块形成、易损斑块形成等病理过程,从而促进动脉粥样硬化起病及进展。

**关键词:** 动脉粥样硬化;血管周围脂肪组织;心血管疾病;基础研究;临床应用

中图分类号: R543.5 文献标志码: A

DOI: 10.16352/j.issn.1001-6325.2023.04.0685

## Research progress on the mechanism of perivascular adipose tissue inflammation promoting atherosclerosis

DU Fenghe<sup>1,2</sup>, LIU Bao<sup>1\*</sup>

1. Department of Vascular Surgery, Peking Union Medical College Hospital, CAMS & PUMC, Beijing 100730;
2. 4+4 Medical Doctor Program, PUMC, Beijing 100730, China

**Abstract:** Atherosclerosis is harmful to human health. Under pathological conditions including hypertension and hyperlipidemia, increased levels of pro-inflammatory immunocytes in perivascular adipose tissue (PVAT), “whitening” of brown adipose tissue, and oxidative stress could promote the development of PVAT inflammation. PVAT inflammation could induce various crucial stages of atherosclerosis by disturbing secretion of inflammatory and anti-inflammatory adipokines, inhibiting PVAT cell autophagy, and activating angiogenesis in arterial adventitia, thereby promoting the onset and progression of atherosclerosis.

**Key words:** atherosclerosis; perivascular adipose tissue; cardiovascular disease; basic research; clinical application

收稿日期: 2022-12-08 修回日期: 2023-02-16

基金项目: 国家自然科学基金(82070498, 82100521); 大学生创新训练计划项目(2022zjlc06067); 中央高水平医院临床科研业务费(2022-PUMCH-A-078, 2022-PUMCH-A-189, 2022-PUMCH-B-125); 中国医学科学院中央级公益性科研院所基本科研业务费(2022-JKCS-09)

\* 通信作者 (corresponding author): liubao72@aliyun.com

动脉粥样硬化是严重威胁生命与健康的心血管疾病。血管周围脂肪组织(perivascular adipose tissue, PVAT)的功能曾被认为仅限于血管支撑作用,但随着PVAT分泌功能得到揭示,PVAT炎症反应在动脉粥样硬化中的重要作用逐渐成为研究热点。本文拟通过对PVAT炎症反应促进动脉粥样硬化作用机制的研究进展进行综述,为未来研究及动脉粥样硬化的精准防治提供新的思路。

## 1 血管周围脂肪组织炎症反应概述

生理状态下,PVAT通过分泌一氧化氮(nitrogen oxide, NO)、脂联素(adiponectin, ADN)等血管保护性因子维持动脉功能稳态<sup>[1-2]</sup>。而高血压、高血糖、高脂血症、吸烟可引起PVAT中促炎性细胞亚型水平上调、氧化应激反应、棕色脂肪“白色化”,进而诱导PVAT炎症反应<sup>[3-5]</sup>。动脉粥样硬化发病过程中,动脉内皮细胞功能紊乱及动脉粥样硬化斑块形成继发于PVAT炎症反应,其可能是动脉粥样硬化发病的始动机制<sup>[6]</sup>。PVAT炎症反应可引起促炎及抑炎性脂肪因子旁分泌紊乱,在动脉粥样硬化的多个关键发病环节中起到促进作用。

## 2 血管周围脂肪组织炎症反应促进动脉粥样硬化发病及进展的机制

PVAT炎症反应可通过引起促炎及抑炎性脂肪因子分泌紊乱、抑制PVAT中细胞自噬、促进动脉外膜滋养血管形成等机制,诱导内皮细胞功能损害、动脉内膜单核-巨噬细胞浸润、动脉粥样硬化斑块形成、易损斑块形成等多个动脉粥样硬化病理生理过程,从而促进动脉粥样硬化起病及进展。

### 2.1 内皮细胞功能损害

PVAT炎症反应可通过促炎性细胞因子旁分泌促进内皮细胞功能损害,进而诱导动脉粥样硬化发病。肥胖小鼠PVAT中解偶联蛋白-1(uncoupling protein-1, UCP-1)水平下调可通过激活核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白3(NOD-like receptor protein 3, NLRP3)炎症小体上调白细胞介素-1 $\beta$ (interleukin-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ )表达,进而IL-1 $\beta$ 以旁分泌方式作用于动脉内皮细胞,促进内皮细胞炎症反应及舒张功能障碍,加重动脉粥样硬化<sup>[7]</sup>。该研究为动脉粥样硬化的精准治疗提供了新的思路。但是,目前

尚缺乏选择性敲除PVAT中基因的方法,因此无法排除在肥胖条件下,内脏脂肪中UCP-1表达的下调及系统性炎症反应对内皮细胞功能障碍及动脉粥样硬化发病的影响。胰高血糖素样肽-1(glucagon-like peptide-1, GLP-1)可通过抑制核因子 $\kappa$ B(nuclear factor kappa-B, NF- $\kappa$ B)信号传导减轻PVAT中NLRP3炎症小体依赖性炎症反应,减少PVAT对IL-1 $\beta$ 的旁分泌,具有延缓、治疗动脉粥样硬化的潜在作用<sup>[8]</sup>。本课题组已通过动脉粥样硬化患者及颈动脉体瘤患者的PVAT单细胞分析发现动脉粥样硬化患者PVAT中表达上调的基因。进一步探索在动脉粥样硬化患者PVAT中特异性表达的基因,通过设计载药脂质体将GLP-1、siRNA等药物靶向递送至PVAT,精准下调PVAT炎症反应,从而验证PVAT炎症反应促进动脉粥样硬化发病的关键机制是未来研究的重要方向。

此外,PVAT炎症反应可通过抑制细胞自噬促进动脉内皮细胞功能障碍及动脉粥样硬化。肥胖小鼠中,雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)磷酸化可抑制PVAT细胞自噬,从而促进肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )旁分泌,继而TNF- $\alpha$ 通过抑制内皮细胞磷脂酰肌醇-3-激酶/丝苏氨酸蛋白激酶(phosphatidylinositol 3-kinase/serine-threonine kinase, PI3K/AKT)通路下调内皮型一氧化氮合酶(endothelial nitric oxide synthase, eNOS)磷酸化,损害内皮细胞NO依赖性舒张功能,促进动脉粥样硬化发病。而二肽基肽酶-4抑制剂,阿格列汀,可通过上调GLP-1抑制mTOR磷酸化,从而激活PVAT自噬并改善内皮细胞功能<sup>[9]</sup>。因此,促进PVAT细胞自噬可抑制PVAT炎症反应,继而改善动脉内皮细胞功能,防止动脉粥样硬化发病,是动脉粥样硬化预防与治疗的潜在靶点。

### 2.2 动脉内膜单核-巨噬细胞浸润

动脉内膜单核-巨噬细胞浸润是动脉粥样硬化发病的关键环节。PVAT炎症反应中,UCP-1表达下调可激活PVAT中Notch信号通路,继而促进动脉PVAT棕色脂肪“白色化”<sup>[10-12]</sup>。动脉粥样硬化早期,PVAT脂肪“白色化”与PVAT中促炎性1型巨噬细胞(type 1 macrophage, M1)比例升高、TNF- $\alpha$ 等促炎性细胞因子水平上调、ADN等抑炎性脂肪因子下调密切相关。TNF- $\alpha$ 等促炎性脂肪因子可通过

旁分泌上调动脉内皮细胞血管细胞黏附分子-1 (vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1)、细胞间黏附分子-1 (intercellular cell adhesion molecule-1, ICAM-1) 表达, 增加单核细胞招募, 促进动脉粥样硬化发病<sup>[4]</sup>。而 PVAT 中 UCP-1 水平上调可通过脂肪组织“棕色化”降低 PVAT 炎性反应水平, 进而下调动脉内皮细胞黏附分子表达<sup>[4]</sup>。因此, UCP-1 是动脉粥样硬化防治的潜在靶点。于动脉粥样硬化早期上调 PVAT 中 UCP-1 表达可改善 PVAT 免疫微环境, 有助于减少单核-巨噬细胞浸润, 延缓动脉粥样硬化发病。

应用钠-葡萄糖协同转运蛋白 2 抑制剂 (sodium-glucose transporter 2 inhibitor, SGLT2i) 及上调 PVAT 中过氧化物酶体增殖物活化受体- $\gamma$  (peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$ , PPAR- $\gamma$ ) 表达是恢复 PVAT 炎性反应中 UCP-1 表达、减少动脉内膜单核-巨噬细胞浸润的潜在方法。SGLT2i 可通过增加脂肪组织交感神经支配上调脂肪组织中 UCP-1 表达, 从而促进脂肪“棕色化”, 抑制 PVAT 炎性反应<sup>[13]</sup>, 使瘦素 (leptin, LPN) 等 PVAT 促炎性脂肪因子旁分泌水平降低, 继而减少动脉内膜单核-巨噬细胞浸润, 延缓动脉粥样硬化发病<sup>[14]</sup>。此外, PPAR- $\gamma$  可通过上调 UCP-1 促进白色脂肪向棕色脂肪转化<sup>[15]</sup>。因此, 上调 PPAR- $\gamma$  表达亦可作为 PVAT 炎性反应中恢复 UCP-1 表达水平、调节 PVAT 炎性反应、减少动脉内膜单核-巨噬细胞浸润的潜在方法。

PVAT 炎性反应可诱导 UCP-1 水平下调, 进而通过多种机制促进动脉粥样硬化早期内膜单核-巨噬细胞浸润。PVAT 炎性反应中精准上调 UCP-1 表达的方法及其对延缓动脉粥样硬化发病的有效性将是未来研究的重要方向。

### 2.3 泡沫细胞形成

动脉内膜中泡沫细胞的形成与聚集是动脉粥样硬化早期脂纹形成的病理生理学基础, 在动脉粥样硬化疾病进展中发挥重要作用。泡沫细胞的形成与 PVAT 炎性反应中 PVAT 旁分泌改变密切相关。PVAT 炎性反应可使 PVAT 干扰素- $\gamma$  (interferon- $\gamma$ , IFN- $\gamma$ ) 旁分泌增加、IL-4 旁分泌减少<sup>[4,16]</sup>; IFN- $\gamma$ 、脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 及 Toll 样受体 4 (Toll-like receptor 4, TLR4) 通过上调巨噬细胞内 p21 活化激酶 1 (p21-activated kinase 1, PAK1) 表达促进巨噬

细胞向 M1 亚型极化、抑制 M2 亚型极化, 并增加巨噬细胞表面 A 类清道夫受体 (scavenger receptor A, SR-A) 与血小板糖蛋白 (CD36) 表达、下调巨噬细胞表面腺苷三磷酸结合盒转运蛋白 A1 (ATP binding cassette transporter A1, ABCA1) 及腺苷三磷酸结合盒转运蛋白 G1 (ATP binding cassette transporter G1, ABCG1) 表达, 使巨噬细胞胆固醇流入增加、流出减少, 促进泡沫细胞形成<sup>[17]</sup>。然而, 动脉内膜中巨噬细胞向 M1、M2 的极化与泡沫细胞的形成也受到动脉粥样硬化斑块微环境影响, 因此, PVAT 炎性反应是否可成为抑制泡沫细胞形成的最佳靶点尚不明确, 仍需进一步探索。

### 2.4 动脉粥样硬化斑块形成

PVAT 炎性反应可下调骨形态发生蛋白-4 (bone morphogenetic protein-4, BMP4) 表达从而增加 PVAT 中脂肪分解, 导致表现为血浆总胆固醇、低密度脂蛋白升高的血脂异常, 进而促进动脉内膜脂质沉积, 诱导动脉粥样硬化斑块形成<sup>[18]</sup>。此外, PVAT 炎性反应中, BMP-4 表达下调可通过增加 IL-1 $\beta$  旁分泌加速动脉粥样硬化斑块形成<sup>[18]</sup>。肥胖冠心病患者较非肥胖瓣膜病患者 PVAT 中 IL-1 $\beta$  水平显著升高, 且 PVAT 中 IL-1 $\beta$  的升高水平与冠脉狭窄程度呈正相关, 提示 PVAT IL-1 $\beta$  旁分泌与动脉粥样硬化斑块形成密切相关<sup>[19]</sup>。动脉内膜损伤可促进 PVAT 炎性反应并增加 IL-1 $\beta$  的旁分泌, IL-1 $\beta$  可促进动脉外膜成纤维细胞增殖、动脉外膜重塑及纤维化, 进而诱导动脉管壁炎性反应, 以“从外向内”的方式上调纤维斑块中免疫细胞招募及氧化应激反应, 诱导动脉粥样硬化斑块形成<sup>[20-21]</sup>。因此, PVAT 中 IL-1 $\beta$  的旁分泌不仅是动脉粥样硬化发病早期精准防治的潜在靶点, 同样可作为延缓动脉粥样硬化疾病进展的重要靶点。但是, 选择性下调 PVAT 中 IL-1 $\beta$  的方法有待未来研究探索。

### 2.5 斑块易损性

动脉粥样硬化斑块易损性是决定心血管事件发生风险的重要因素。PVAT 炎性反应可增加斑块内新生血管形成, 促进斑块易损性。PVAT 炎性反应可通过单核细胞趋化蛋白 (monocyte-chemoattractant protein-1, MCP-1) 表达上调促进动脉外膜滋养血管形成<sup>[22]</sup>。尸检研究显示, 动脉外膜滋养血管密度与斑块纤维帽厚度减少程度呈正相关, 新生滋养血管

可生长至斑块坏死核心边缘,最终导致胆固醇、泡沫细胞等进入斑块,从而促进炎症反应、斑块生长,进而增加斑块易损性<sup>[23]</sup>。虽然易损斑块的形成与PVAT炎症反应相关,目前尚缺乏PVAT炎症反应诱导易损斑块形成的直接证据,且分子机制尚不明确。由于目前已可通过无创方式评估PVAT炎症反应,明确PVAT炎症反应是否导致易损斑块形成及其分子机制将有助于易损斑块的早期识别与预防,改善患者预后。

### 3 无创方法评估血管周围脂肪组织炎症反应有助于动脉粥样硬化的精准防治

病理学染色曾是准确评估PVAT炎症反应的唯一方法。然而,病理学检测是有创方法,且临床中只可在动脉粥样硬化闭塞症手术治疗并获取PVAT样本后进行,因此该方法对动脉粥样硬化诊治的指导价值有限。考虑到病理学检测对于临床诊治的局限性,近期研究发现计算机断层扫描(computed tomography, CT)可成为检测人类PVAT炎症反应的有力工具。CT脂肪衰减指数(fat attenuation index, FAI)是一种水脂比的成像指标,与PVAT中脂肪细胞大小、脂质含量相关,对PVAT炎症反应的预测具有出色的敏感性和特异性<sup>[24]</sup>。PVAT炎症反应在CT中表现为脂肪密度减低,其与冠状动脉粥样硬化斑块中脂质成分增加呈正相关<sup>[25]</sup>。由于PVAT炎症反应可促进动脉粥样硬化的起病与进展,无创方法评估PVAT炎症反应可通过PVAT炎症反应的早期识别为动脉粥样硬化的精准防治奠定基础。早期识别并靶向抑制PVAT炎症反应可

能是延缓动脉粥样硬化疾病进展、改善患者预后的重要方法。本课题组正在通过影像组学分析技术识别动脉粥样斑块中微观组织成分及结构特征,致力于早期发现易损、高危的动脉粥样斑块。此外,结合目前影像组学研究成果,通过CT成像方法明确PVAT炎症反应是否可成为预测易损斑块形成、指导临床诊治的无创方式将是未来研究的重要方向。

### 4 问题与展望

高血压、高血脂、高血糖等病理条件的刺激可促进PVAT炎症反应。PVAT炎症反应中,UCP-1、PPAR- $\gamma$ 、IL-1 $\beta$ 表达水平的改变在内皮细胞功能障碍、动脉内膜免疫细胞浸润、动脉粥样硬化斑块形成等多个关键病理生理环节发挥重要作用。明确PVAT中UCP-1、PPAR- $\gamma$ 、IL-1 $\beta$ 是否可作为动脉粥样硬化精准治疗的靶点将是未来研究中的关键问题。此外,目前尚缺乏将药物靶向递送至PVAT的方法。通过探索动脉粥样硬化患者PVAT中特异性表达的基因并设计载药脂质体靶向介导PVAT炎症反应的关键靶点,不仅可明确PVAT炎症反应促进动脉粥样硬化发病的关键机制,还可为动脉粥样硬化的精准治疗及基础研究的临床转化提供新的方法。最后,临床中使用影像学方法无创评估动脉粥样硬化患者PVAT炎症反应并明确PVAT炎症反应是否可成为易损斑块形成及心血管事件的临床预测指标,将为动脉粥样硬化临床诊疗提供指导,亦有助于动脉粥样硬化的精准防治,有待未来研究探索。

### 参考文献:

- [1] Saxton SN, Withers SB, Heagerty AM. Perivascular adipose tissue anticontractile function is mediated by both endothelial and neuronal nitric oxide synthase isoforms[J]. *J Vasc Res*, 2022, 59:288-302.
- [2] Watts SW, Flood ED, Garver H, *et al.* A new function for perivascular adipose tissue (PVAT): assistance of arterial stress relaxation[J]. *Sci Rep*, 2020, 10:1807. doi: 10.1038/s41598-020-58368-x.
- [3] Kumar RK, Yang Y, Contreras AG, *et al.* Phenotypic changes in T cell and macrophage subtypes in perivascular adipose tissue precede high-fat diet-induced hypertension [J]. *Front Physiol*, 2021, 12:616055. doi: 10.3389/fphys.2021.616055.
- [4] Wang J, Polaki V, Chen S, *et al.* Exercise improves endothelial function associated with alleviated inflammation and oxidative stress of perivascular adipose tissue in type 2 diabetic mice[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2020, 2020:8830537. doi: 10.1155/2020/8830537.
- [5] Adachi Y, Ueda K, Nomura S, *et al.* Being of perivascular adipose tissue regulates its inflammation and

- vascular remodeling[J]. *Nat Commun*, 2022, 13:5117. doi: 10.1038/s41467-022-32658-6.
- [6] Skiba DS, Nosalski R, Mikolajczyk TP, *et al.* Anti-atherosclerotic effect of the angiotensin 1-7 mimetic AVE0991 is mediated by inhibition of perivascular and plaque inflammation in early atherosclerosis[J]. *Br J Pharmacol*, 2017, 174:4055-4069.
- [7] Gu P, Hui X, Zheng Q, *et al.* Mitochondrial uncoupling protein 1 antagonizes atherosclerosis by blocking NLRP3 inflammasome-dependent interleukin-1 $\beta$  production [J]. *Sci Adv*, 2021, 7: eabl4024. doi: 10.1126/sciadv.abl4024.
- [8] Chen X, Huang Q, Feng J, *et al.* GLP-1 alleviates NLRP3 inflammasome-dependent inflammation in perivascular adipose tissue by inhibiting the NF- $\kappa$ B signalling pathway [J]. *J Int Med Res*, 2021, 49:300060521992981. doi: 10.1177/0300060521992981.
- [9] Zhu B, Li Y, Mei W, *et al.* Alogliptin improves endothelial function by promoting autophagy in perivascular adipose tissue of obese mice through a GLP-1-dependent mechanism[J]. *Vascul Pharmacol*, 2019, 115:55-63.
- [10] Pan XX, Yao KL, Yang YF, *et al.* Senescent T cell induces brown adipose tissue “whitening” via secreting IFN- $\gamma$ [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 637424. doi: 10.3389/fcell.2021.637424.
- [11] Sasoh T, Kugo H, Kondo Y, *et al.* Different effects of high-fat and high-sucrose diets on the physiology of perivascular adipose tissues of the thoracic and abdominal aorta[J]. *Adipocyte*, 2021, 10:412-423.
- [12] Boucher JM, Ryzhova L, Harrington A, *et al.* Pathological conversion of mouse perivascular adipose tissue by Notch activation[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2020, 40: 2227-2243.
- [13] Yang X, Liu Q, Li Y, *et al.* Inhibition of the sodium-glucose co-transporter SGLT2 by canagliflozin ameliorates diet-induced obesity by increasing intra-adipose sympathetic innervation [J]. *Br J Pharmacol*, 2021, 178:1756-1771.
- [14] Mori K, Tsuchiya K, Nakamura S, *et al.* Ipragliflozin-induced adipose expansion inhibits cuff-induced vascular remodeling in mice[J]. *Cardiovasc Diabetol*, 2019, 18:83. doi: 10.1186/s12933-019-0886-1.
- [15] Kroon T, Harms M, Maurer S, *et al.* PPAR $\gamma$  and PPAR $\alpha$  synergize to induce robust browning of white fat *in vivo* [J]. *Mol Metab*, 2020, 36:100964. doi: 10.1016/j.molmet.2020.02.007.
- [16] Mohd Idrus FN, Ahmad NS, Hoe CH, *et al.* Differential polarization and the expression of efferocytosis receptor MerTK on M1 and M2 macrophages isolated from coronary artery disease patients[J]. *BMC Immunol*, 2021, 22:21. doi: 10.1186/s12865-021-00410-2.
- [17] Cheng WL, Zhang Q, Li B, *et al.* PAK1 silencing attenuated proinflammatory macrophage activation and foam cell formation by increasing PPAR $\gamma$  expression[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2021, 2021: 6957900. doi: 10.1155/2021/6957900.
- [18] Mu W, Qian S, Song Y, *et al.* BMP4-mediated browning of perivascular adipose tissue governs an anti-inflammatory program and prevents atherosclerosis [J]. *Redox Biol*, 2021, 43:101979. doi: 10.1016/j.redox.2021.101979.
- [19] Mazzotta C, Basu S, Gower AC, *et al.* Perivascular adipose tissue inflammation in ischemic heart disease[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2021, 41:1239-1250.
- [20] Zhu X, Zhang HW, Chen HN, *et al.* Perivascular adipose tissue dysfunction aggravates adventitial remodeling in obese mini pigs via NLRP3 inflammasome/IL-1 signaling pathway[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2019, 40:46-54.
- [21] Hettwer J, Hinterdobler J, Miritsch B, *et al.* Interleukin-1 $\beta$  suppression dampens inflammatory leucocyte production and uptake in atherosclerosis [J]. *Cardiovasc Res*, 2022, 118:2778-2791.
- [22] Manka D, Chatterjee TK, Stoll LL, *et al.* Transplanted perivascular adipose tissue accelerates injury-induced neointimal hyperplasia: role of monocyte chemoattractant protein-1[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2014, 34: 1723-1730.
- [23] Ito H, Wakatsuki T, Yamaguchi K, *et al.* Atherosclerotic coronary plaque is associated with adventitial vasa vasorum and local inflammation in adjacent epicardial adipose tissue in fresh cadavers[J]. *Circ J*, 2020, 84:769-775.
- [24] Oikonomou EK, Antonopoulos AS, Schottlander D, *et al.* Standardized measurement of coronary inflammation using cardiovascular computed tomography: integration in clinical care as a prognostic medical device[J]. *Cardiovasc Res*, 2021, 117:2677-2690.
- [25] Lee SE, Sung JM, Andreini D, *et al.* Association between changes in perivascular adipose tissue density and plaque progression[J]. *JACC: Cardiovasc Imaging*, 2022, 15: 1760-1767.